



новления потенциала; угловой коэффициент наклона прямой электродной функции $E = f(pC)$; дрейф потенциала; срок службы; найден рабочий интервал рН электрода; оценено влияние температурного фактора на работу электрода;

методом бионных потенциалов определены коэффициенты селективности электрода по отношению к витамину В1, Ca^{2+} , крахмалу, глюкозе;

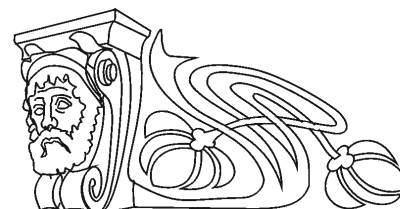
разработана методика определения витамина В6 в препарате «Пиридоксина гидрохлорид».

Список литературы

1. Vaze V. D., Srivastava A. K. Short communication Determination of pyridoxine hydrochloride in pharmaceutical preparations by calixarene based potentiometric sensor // J. of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 2008. Vol. 47, iss. 1. P. 177–182.
2. Столяров Е. Е., Карпенко Ю. Н., Малкова Т. Л. Определение ряда местных анестетиков в биологических жидкостях при химико-токсикологических исследованиях // Суд.-мед. экспертиза. 2009. № 3. С. 26.
3. Евтухова Е. Н., Паишкова Л. В. Вольтамперометрическое определение лидокаина гидрохлорида // Медицина и образование в Сибири. 2007. № 3. URL: http://www.ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php (дата обращения: 10.10.2012).
4. Шведене Н. В. Селективные электроды на органические ионы // Сорос. образоват. журн. 2004. Т. 8, № 2. С. 37–43.
5. Бакибаев А. А., Боев А. С., Короткова Е. И. Вольтамперометрическое определение пиридоксина (витамина В6) на модифицированном платиновом электроде // Изв. высших учебных заведений. Химия и химическая технология. 2008. Т. 51, № 5. С. 21–24.
6. Граник В. Г. Лекарства. Фармакологический, биохимический и химический аспекты. М.: Вуз. кн., 2001. С. 407.
7. Кулатина Е. Г., Чернова Р. К., Кулатин А. И. Потенциометрические сенсоры для определения синтетических поверхностно-активных веществ. Саратов: Науч. кн. 2008. С. 179.
8. Чернова Р. К., Баринова О. В., Кулатина Е. Г., Матерова Е. А. Твёрдоконтактные электроды для определения некоторых азотсодержащих лекарственных препаратов // Журн. аналит. химии. 1995. Т. 50, № 7. С. 774–777.

УДК 543.544

ОДНОВРЕМЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФУНГИЦИДОВ ТИРАМА И ТЕБУКОНАЗОЛА В ЗЕРНЕ МЕТОДАМИ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ИЛИ МИЦЕЛЛЯРНОЙ ЭЛЕКТРОКИНЕТИЧЕСКОЙ ХРОМАТОГРАФИИ



В. Г. Амелин^{1,2}, Д. С. Большаков^{1,2},
Д. К. Лаврухин^{1,2}, А. В. Третьяков¹

¹Федеральный центр охраны здоровья животных, Владимир

²Владимирский государственный университет

E-mail: amelinvg@mail.ru

Выбраны оптимальные условия разделения и определения методом ВЭЖХ или мицеллярной электрокинетической хроматографии (МЭКХ) комбинированных фунгицидов тирама и тебуконазола. Предложена методика одновременного определения пестицидов в зерне. Степень извлечения пестицидов составила 90–95%. Нижние границы определяемых содержаний пестицидов с учетом концентрирования составили 0,005 мг/кг в методе КЭ и 0,0025 мг/кг в методе ВЭЖХ. Относительное стандартное отклонение результатов анализа не превышает 0,09, продолжительность анализа 1–1,5 ч.

Ключевые слова: ТМТД, тирам, тебуконазол, триазолы, мицеллярная электрокинетическая хроматография, ВЭЖХ, зерно.

Simultaneous Determination of Fungicides Thiram and Tebuconazole in Grain by High Performance Liquid or Micellar Electrokinetic Chromatography

V. G. Amelin, D. S. Bolshakov,
D. K. Lavrukhin, A. V. Tretyakov

Optimal conditions for separation and determination by HPLC or MEKC combined fungicides thiram and tebuconazole are selected. The method of simultaneous determination of pesticides in grain offered. The recovery of pesticides was 90–95%. Lower bounds defined by the contents of pesticides, taking into account the concentration amounted to 0.005 mg kg⁻¹ in the MEKC method, and 0.0025 mg kg⁻¹ in the



method of HPLC. The relative standard deviation of the results of the analysis is less than 0.09, analysis of the duration of 1–1.5 h

Key words: TMTD, thiuram, tebuconazole, triazoles, micellar electrokinetic chromatography, HPLC, grain.

Двухкомпонентные фунгициды «ТИР», «РАК-СИЛ+ТМТД» используют при протравливании семян яровых и озимых зерновых культур (пшеница, ячмень, рожь, кукуруза) для защиты от комплекса болезней, включая виды головни, корневые гнили. Взаимодополняющее действие компонентов обеспечивает длительную надежную защиту. Их действующие вещества – тирам (ТМТД, тетраметилтиурам дисульфид) и тебуконазол идеально дополняют друг друга и позволяют эффективно бороться как с поверхностными, так и с внутренними инфекциями [1]. Остаточные количества фунгицидов в зерне и продуктах его переработки нормированны и составляют для тирама 0,01 мг/кг, для тебуконазола – 0,9 мг/кг [2].

Определяют данные пестициды обычно отдельно. Так, для определения тирама предложены методы ВЭЖХ [3–5], капиллярного электрофореза [6], спектрофотометрический [7], для тебуконазола – метод газожидкостной хроматографии [8, 9].

Цель данной работы заключалась в разработке методик одновременного определения тирама и тебуконазола в зерне методами ВЭЖХ или МЭКХ.

Экспериментальная часть

В работе использовали систему капиллярного электрофореза «Капель -105М» («Люмэкс», Россия) с положительной полярностью источника высокого напряжения и УФ-детектором. Внутренний диаметр капилляра 75 мкм, эффективная длина капилляра 50 см. Перед определением капилляр последовательно промывали 0,5 М раствором NaOH в течение 10 мин, дистиллированной водой в течение 5 мин и ведущим электролитом в течение 10 мин. Применяли гидродинамический ввод пробы. Сбор и обработку данных проводили с помощью IBM PC с программным обеспечением «Мультихром» (АО «Амперсенд», Россия). Для приготовления ведущего электролита использовали додецилсульфат натрия (Merck), ацетонитрил (Prolabo), натрий тетраборнокислый десятиводный (х.ч., ГОСТ 4199-76), бидистиллированную воду (ГОСТ 7602-72).

Использовали жидкостной хроматограф с диодноматричным детектором «Flexar DAD» (Perkin-Elmer, США), колонку XTerra™ RP₁₈ 3,9 × 150 мм, 3 мкм (Waters, США). Градиент подвижной фазы вода – ацетонитрил (%): 20 – 0 мин, 40 – 10–15 мин, 80 – 26–34 мин и 20 – 34,1 мин. Скорость потока 1,2 мл/мин, детектируемая длина волны 220 нм. Объем вводимой пробы 10 мкл.

Использовали стандартные образцы пестицидов (чистота 98,5 - 99 %): тебуконазола (ГСО 7669-99, ВНИИХСЗР), тирама (ГСО 8025-94, ВНИИХСЗР). Растворы 100 мкг/мл готовили растворением соответствующих навесок в ацетоне. Рабочие растворы *готовили* в день использования разбавлением исходных ацетоном или ведущим электролитом для МЭКХ.

Пробоподготовка. Навеску измельченного анализируемого материала 5,0 г помещали в колбу с притертой пробкой, приливали 10 мл хлороформа и встряхивали в течение 30 мин. Полученный экстракт фильтровали через бумажный фильтр и промывали еще 10 мл хлороформа в остродонную колбу для ротационного испарителя. Экстракт упаривали досуха при комнатной температуре, остаток растворяли в 250 мкл ацетона для ВЭЖХ или в 250 мкл ведущего электролита для МЭКХ и использовали для анализа.

При оценке степени протравливания семян отбирали навеску 0,1 г крупноизмельченного анализируемого материала, добавляли 10 мл ацетона, встряхивали в течение 5–10 мин, отбирали необходимый объем экстракта для анализа методом ВЭЖХ. При использовании МЭКХ отбирали 0,5–1 мл экстракта, упаривали досуха и растворяли в 0,5–1 мл ведущего электролита.

Результаты и их обсуждение

Мицеллярная электрокинетическая хроматография (МЭКХ). Тирам используется чаще всего не только с тебуконазолом, но и с другими триазолами. Так, препаратом «ПРОПИ ПЛЮС, КЭ» (действующее вещество пропиконазол) обрабатывают зерновые культуры еще в период вегетации. Установлено, что при совместном присутствии тирама и триазолов они хорошо разделяются методом МЭКХ. Разделение тирама и 11 триазолов (пенконазол, ципроконазол, триконазол, тебуконазол, пропиконазол, эпоксиконазол, диниконазол, триадимефон, триадименол, дифеноконазол, флутриафол) показано на рис. 1. Использовали ведущий электролит, состоящий из 10 мМ тетрабората натрия, 30 мМ додецилсульфата натрия, 10 мМ ацетата тетрабутиламмония и 10 % ацетонитрила ($U = +25$ кВ, ввод пробы – 300 мбар × с) (см. рис. 1). Исследуемые фунгициды поглощают свет в УФ-области спектра. Каждому пестициду соответствует определенная длина волны света, детектирование на которой наиболее чувствительно (200–260 нм). В связи с этим выбрана средняя длина волны, при которой возможно проводить анализ с приемлемой чувствительностью для каждого компонента смеси. Для детектирования выбрана длина волны 220 нм.

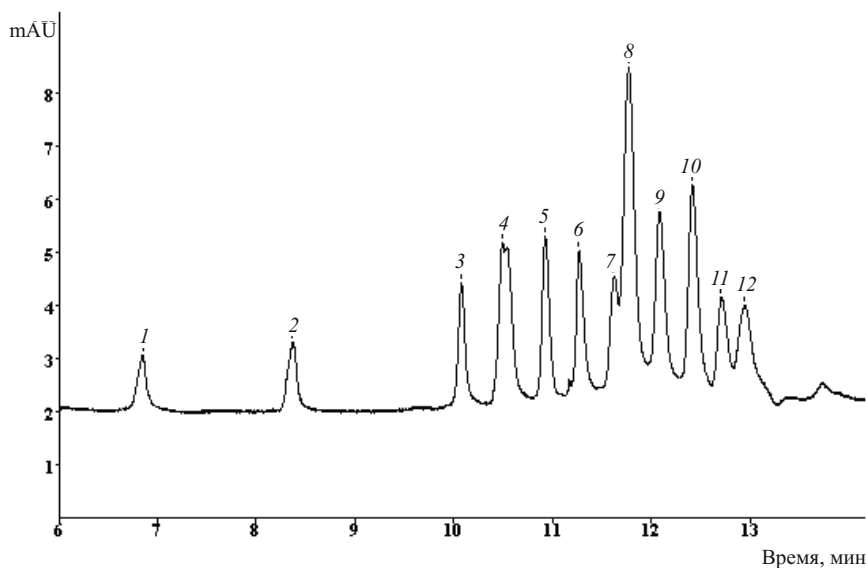


Рис. 1. Электрофореграмма смеси производных триазола с тирамом (по 10 мг/л): 1 – тирам, 2 – флутриафол, 3 – триадименол, 4 – триадимефон, 5 – тритриконазол, 6 – ципроконазол, 7 – пропиконазол, 8 – эпоксиконазол, 9 – тебуконазол, 10 – пенконазол, 11 – диниконазол, 12 – дифеноконазол

Предел обнаружения (соотношение сигнал: шум = 3) составил 0,05 мг/л для тирама и тебуконазола. Градуировочные графики линейны в диапазоне 0,1–10 мг/л ($y = 1.73608x$ – для тирама и $y = 0.84086x$ – для тебуконазола). В таблице представлены результаты определения фунгицидов в зерне, а на рис. 2, 3 показаны

примеры хроматограмм экстрактов. С учетом концентрирования экстракта (20-кратное) диапазоны определяемых содержаний тирама и тебуконазола составили 0,005–0,5 мг/кг. Продолжительность анализа 1–1,5 ч, относительное стандартное отклонение результатов анализа не превышает 0,08.

Времена миграции (удерживания), степень извлечения и результаты определения фунгицидов в зерне ($n = 3, P = 0,95$)

Фунгицид	t_R , мин		Степень извлечения, %	Найдено		
	ВЭЖХ	КЭ		Протравленная рожь, г/кг	Ячмень, мг/кг	Пшеница, мг/кг
Тирам	5,6	7,6	95 ± 3	0,82 ± 0,03* 0,79 ± 0,04**	0,91 ± 0,04* 1,00 ± 0,05**	0,0050 ± 0,0006* 0,004**
Тебуконазол	17,3	12,2	91 ± 2	0,041 ± 0,004* 0,039 ± 0,005**	—***	—

Примечание. *определено ВЭЖХ, **определено МЭКХ, ***не обнаружено.

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ). Разделение смесей тирама и триазолов проведено на колонке XTerra™ RP₁₈, которая объединяет лучшие свойства как силикагелевых, так и полимерных колонок: механическую суперпрочность, высокую эффективность, стабильность при высоких значениях pH. Колонка идеально подходит для использования с УФ-детектором.

Рассматриваемые фунгициды имеют различную степень полярности и в различной степени удерживаются на гидрофобизированных силикагелях. Для элюирования неполярных веществ подвижная фаза должна обладать достаточно большой

элюирующей силой и, следовательно, содержание сильнополярного органического растворителя (ацетонитрила) должно быть также достаточно высоким. Полярные соединения элюируются уже при небольшом содержании ацетонитрила (20–30%) в подвижной фазе, более гидрофобные при большем содержании (до 80%), поэтому для разделения смесей использовали градиентный режим элюирования. Оптимальная скорость потока элюента для данной колонки – 1,2 мл/мин.

Для детектирования выбрана длина волны 220 нм, при которой возможно проводить анализ с достаточной чувствительностью для каждого компонента смеси (рис. 4). Предел обнаружения

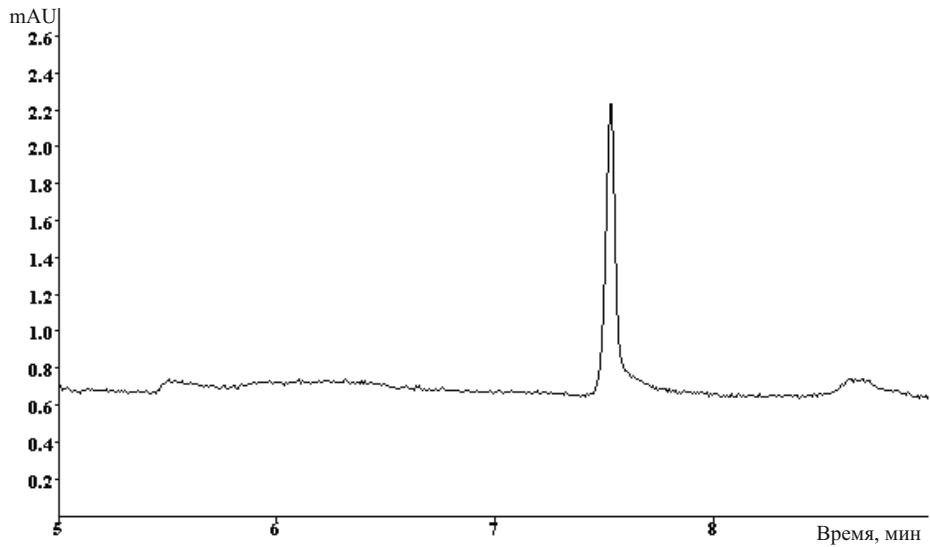


Рис. 2. Электрофореграмма экстракта из кукурузы, протравленной тиразом (0,5 г/кг)

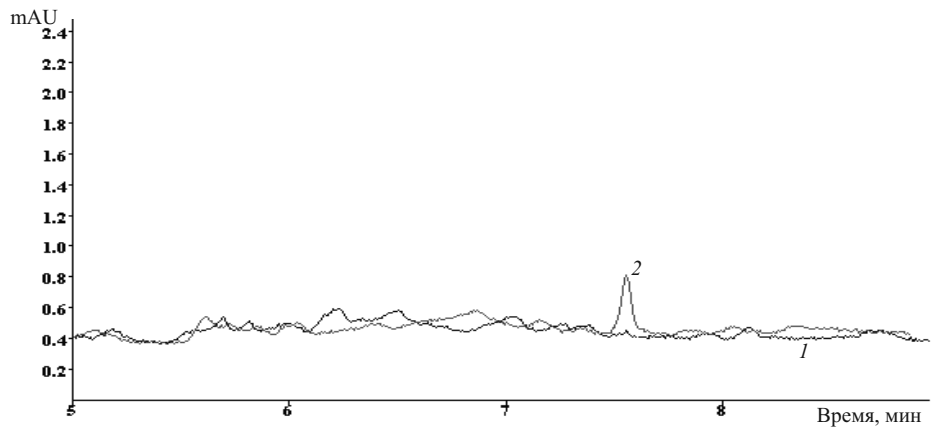


Рис. 3. Электрофореграмма экстракта из ячменя без добавки (1) и с добавкой 0,2 мг/кг тирама (2)

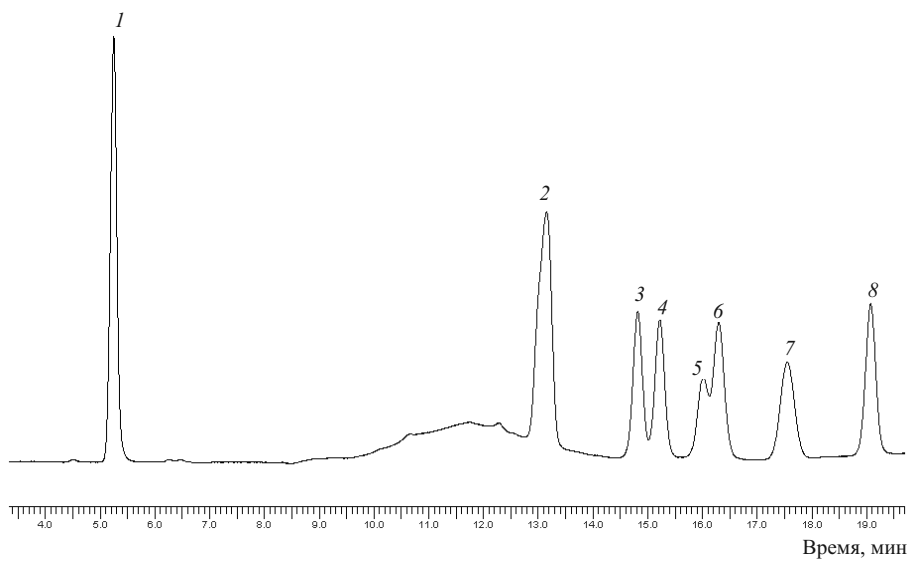


Рис. 4. Хроматограммы стандартных растворов тирама и производных триазола (10 мг/л): 1 – тирам, 2 – ципроконазол, 3 – тригиконазол, 4 – циропиконазол, 5 – триади-мефон, 6 – эпоксиназол, 7 – тебуконазол, 8 – пропиконазол



составил 0,01 мг/л для тирама и тебуконазола. Градуировочный график не линеен для тирама ($y = 52727x + 3234x^2$) и линеен для тебуконазола ($y = 23367x$) в диапазоне 0,05–10 мг/л. В таблице представлены результаты определения

фунгицидов в зерне, а на рис. 5 показан пример хроматограмм экстрактов из пшеницы. С учетом концентрирования пробы (20-кратное) диапазоны определяемых содержаний тирама и тебуконазола составили 0,0025–0,5 мг/кг.

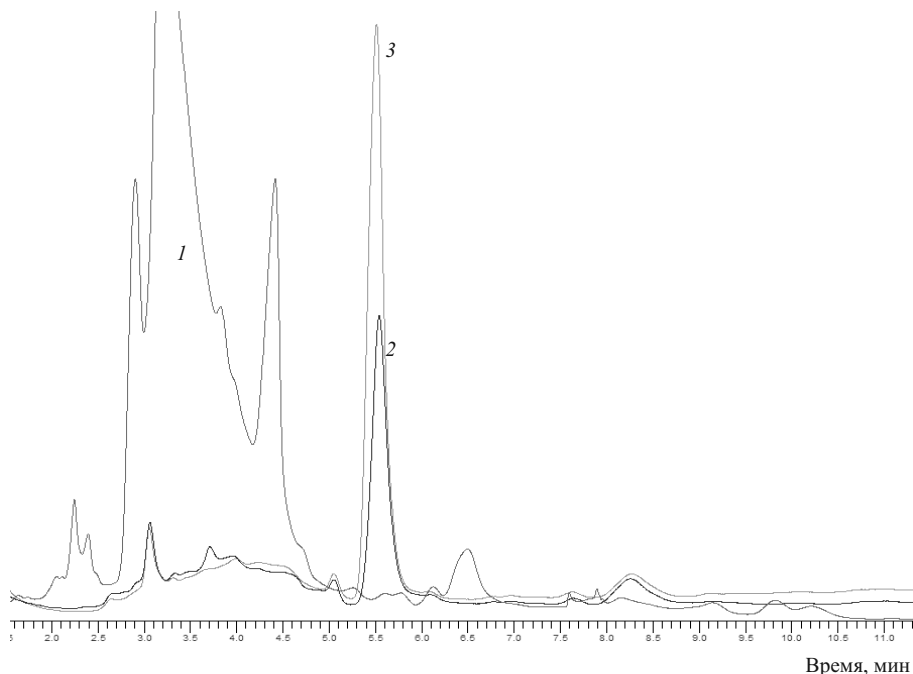


Рис. 5. Хроматограмма экстракта из пшеницы (1) с добавкой 10 мг/кг (2) и 50 мг/кг (3) тирама

Продолжительность анализа составляет 1–1,5 ч, относительное стандартное отклонение результатов анализа не превышает 0,09.

Список литературы

1. Мельников Н. Н. Пестициды. Химия, технология и применение. М.: Химия, 1987. 711 с.
2. Гигиенические нормативы содержания пестицидов в объектах окружающей среды: ГН 1.2.1323-03. М.: Информ.-издат. центр Минздрава России, 2003.
3. Aulakh J. S., Vaneet Kumar Sharma, Mahajan R. K., Malik A. K. HPLC-UV Determination of tetramethylthiuram disulphide (thiram) and thiourea in wheat grains and in a commercial sample // Electron. J. Environ. Agric. Food Chem. 2004. Vol. 3. P. 751.
4. Шаповалова Е. Н., Ярославцева Л. Н., Меркулова Н. Л., Яшин А. Я., Штигун О. А. Высокоэффективная жидкостная хроматография пестицидов с амперометрическим детектированием // Журн. аналит. химии. 2009. Т. 64, № 2. С. 180.
5. Gustafsson H. K., Fanlgren C. H. Determination of dithiocarbamate fungicides in vegetable foodstuffs by high-performance liquid chromatography // Agr. and Food Chem. 1983. Vol. 31, № 2. P. 461.
6. Malik A. K., Faubel W. Capillary electrophoretic determination of tetramethylthiuram disulphide (thiram) // Anal. Lett. 2000. № 10. P. 2055.
7. Кутолей Н. В., Сидорова Л. П., Вишеникина Е. В., Чмиленко Ф. А. Спектрофотометрическое определение тетраметилтиурамдисульфида // Вопросы химии и хим. технологии. 2008. № 1. С. 21.
8. МУК 4.1.2458-09. Определение остаточных количеств тебуконазола, тридимефона и тридименола в ботве и корнеплодах свеклы методом газожидкостной хроматографии. 2009.
9. Cabras P., Angioni A., Garau V. L., Minelli E. V. Gas chromatographic determination of cyprodinil, fludioxonil, pyrimethanil, and tebuconazole in grapes must and wine // J. AOAC Intern. 1997. Vol. 80. P. 867.